



**PENGARUH PAPARAN OBAT NYAMUK TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL SERTOLI PADA TIKUS  
*SPRAGUE DAWLEY***

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan untuk Memenuhi Tugas dan Melengkapi Persyaratan dalam  
Menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

**Di susun oleh :  
AZKA TAJUSSYAROF EL MUZAKKA  
22010110110092**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2014**

**LEMBAR PENGESAHAN JURNAL MEDIA MEDIKA MUDA**

**PENGARUH PAPARAN OBAT NYAMUK TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI SEL SERTOLI TIKUS *SPRAGUE DAWLEY***

Disusun oleh:

**Azka Tajussyarof El Muzakka**

**22010110110092**

**Telah disetujui**

Semarang, 21 Juli 2014

**Pembimbing 1**



Dr. dr. Tri Indah Winarni, PA, M.Si.Med.  
19660510 199702 2 001

**Pembimbing 2**



dr. Ika Pawitra M., M.kes., Sp.PA  
19620617 199001 2 001

**Ketua Penguji**



dr. M. Thohar Arifin, PhD, PA, Sp.BS  
NIP. 197404141999031013

**Penguji**



dr. Raden Mas Soerjo Adji, Sp.B.,PAK.  
NIP. 19590217198703100

# ***THE EFFECT OF EXPOSURE OF MOSQUITO INSECTICIDES REPELLENT TO SERTOLI CELL HISTOPATOLOGY DESCRIPTION OF SPRAGUE DAWLEY RAT***

*Azka Tajussyarof EM<sup>a)</sup>, Ika Pawitra Miranti.<sup>b)</sup>, Tri Indah Winarni<sup>c)</sup>*

## ***ABSTRACT***

**Background :** *Recently, some studied found that an enviromental compounds called xenoestrogen which derived from household products. There is a compound, called endocrine disruptor chemicals (EDCs), in insecticides repellent both liquid and coils form. EDCs will alter endocrine/hormonal regulatory system that may cause alteration of male reproductive system especially testis including spermatozoa, Sertoli, and Leydig cells. The aim of this study is to study the effect of insecticides exposure to the Sertoli cell using histopatological section.*

**Method :** *This research was true experimental with post test only control group design in Sprague Dawley (SD) rat which consisted of 5 group, control, estradiol, mosquito coil repellent, mosquito liquid repellent 3 ml, and 4 ml. Exposure was administered for 20 days and started during post-natal period (day-3). Testis was collected on day-100 (adulthood) after SD rat was terminated.*

**Result :** *in this study, there was a decrease in number of the Sertoli cell in each treatment group, especially in second group that injected by 25 µg β estradiol 3-benzoat. There was significant different beetwen treated group (estrogen potent ( $p=0,002$ ), musquito coil repellent ( $p=0,003$ ), 3 ml mosquito liquid repellent ( $p=0,054$ ), 4 ml musquito repellent ( $p=0,031$ )] compare to those of control group.*

**Conclusion :** *The exposure of mosquito insecticide repellent in 20 days in early life show a decrease in the number Sertoli cell in SD rat.*

**Keywords :** *Sertoli cell, mosquito insecticide, histopatological section, and estrogen disruptors chemicals.*

*a)* Student of Medical Faculty Diponegoro University

*b)* Lecture of Department of Anatomical Pathology, Medical Faculty Diponegoro University

*c)* Lecture of Department of Anatomy, Medical Faculty Diponegoro University

# **PENGARUH PAPARAN OBAT NYAMUK TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL SERTOLI PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY**

Azka Tajussyarof EM<sup>a)</sup>, Ika Pawitra Miranti.<sup>b)</sup>, Tri Indah Winarni<sup>c)</sup>

## **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Pada beberapa tahun belakangan ini diteliti bahwa terdapat senyawa xenoestrogen yang berasal dari produk-produk rumah tangga. Dilaporkan terdapat kandungan senyawa dalam obat nyamuk baik itu bentuk cair atau bakar yang digolongkan sebagai Endocrine Disruptors Chemicals (EDC). EDC dapat mengubah regulasi dari hormon endokrin yang nantinya akan dapat berefek buruk pada sistem reproduksi jantan, dimana termasuk didalamnya sel sperma, sel Sertoli, dan sel Leydig. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati efek obat nyamuk terhadap gambaran histopatologi sel Sertoli.

**Metoda :** Jenis penelitian ini adalah murni eksperimental dengan desain post test Only Control Group pada tikus Sprague Dawley yang terdiri dari 5 ekor tikus pada setiap perlakuan dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok P1 adalah kelompok kontrol, P2 diinjeksikan 25 µg β estradiol 3-benzoat, P3 dipaparkan asap dari obat nyamuk bakar lingkar (transflutrin 0.03%) 8 jam sehari, P4 dipaparkan 3 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.468 mg dan propoxur 12.15 mg) dengan cara disemprotkan sekali sehari, P5 sama dengan P4 hanya berbeda dosis yaitu 4 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.648 mg dan propoxur 16.20 mg). Masing masing perlakuan dipaparkan selama 20 hari. Preparat testis diambil pada hari ke 100 setelah tikus SD diterminasi.

**Hasil :** Pada penelitian ini didapatkan penurunan jumlah sel Sertoli pada masing-masing kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol, terutama pada perlakuan 2 yang diberikan injeksi 25 µg β estradiol 3-benzoat. Terdapat perbedaan bermakna antara grup perlakuan (estrogen potent ( $p=0,002$ ), obat nyamuk bakar ( $p=0,003$ ), 3 ml obat nyamuk cair ( $p=0,054$ ), 4 ml obat nyamuk cair ( $p=0,031$ )] dibandingkan dengan kelompok kontrol.

**Simpulan :** Pemberian estrogen poten dosis tinggi dan obat nyamuk selama 20 hari menunjukkan jumlah penurunan sel Sertoli tikus Sprague Dawley.

**Kata kunci :** sel Sertoli, obat nyamuk, gambaran histopatologi, dan estrogen disruptors chemicals.

- a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- b) Staff Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- c) Staff Pengajar Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Beberapa tahun belakangan ini, perhatian tentang pengaruh senyawa lingkungan atau bahan polutan kimia terhadap kesehatan semakin meningkat. Senyawa tersebut bisa dikatakan sebagai *Endocrine Disrupts Chemical (EDC)* atau senyawa pengganggu endokrin. EDC menyerupai kerja hormon aslinya seperti estrogen, testosteron, atau hormon-hormon endokrin lainnya. *EDC* terbukti dapat mempengaruhi kesehatan manusia termasuk kesehatan reproduksi.<sup>1, 2</sup> Salah satunya adalah penurunan kualitas sperma pada pria.<sup>1, 3</sup> Sehingga mengakibatkan kurangnya kemampuan spermatozoa membuahi sel telur sehingga dapat menyebabkan infertilitas.<sup>3, 4</sup> Tahun 1976-1993 di Amerika Serikat terdapat senyawa estrogen lemah yang terkandung pada peralatan rumah tangga seperti pestisida, insektisida, bahan industri, pertanian dan bahan produksi kemasan makanan.<sup>5-8</sup>

Dilaporkan bahwa paparan yang dilakukan kepada tikus jantan terbukti mengganggu perkembangan pertumbuhan dari organ reproduksi tikus secara menetap.<sup>6, 9, 10</sup> Penelitian selanjutnya mengatakan bahwa paparan *estrogen like hormone* yang juga bisa bersifat sebagai *anti-androgen* pada buaya di danau Apopka Florida mengakibatkan penurunan ukuran testis buaya tersebut.<sup>11</sup> Penurunan jumlah spermatozoa pada manusia yang diduga akibat adanya paparan bahan kimia.<sup>4, 8</sup>

Seiring dengan berkembangnya kemajuan teknologi, munculah beberapa iklan yang menawarkan peralatan-peralatan yang dapat mempermudah pekerjaan

manusia, contohnya seperti pemakaian insektisida atau pestisida, pembungkus plastik, kosmetik, dan deterjen.<sup>12</sup>

Penelitian-penelitian terdahulu melaporkan bahwa pestisida diduga mengandung senyawa kimia yang disebut *Endocrine Disrupts Chemical (EDC)* yang berdampak buruk bagi kesehatan reproduksi manusia.<sup>11, 13</sup> Petisida atau insektisida tersebut terdiri dari beberapa macam seperti DDT, dieldrin, toxaphene, dan endosulfan.<sup>2, 14</sup> Dimana di dalam itu semua terdapat kandungan yang dapat mengganggu organ reproduksi dan aktifitas kerja hormon endokrin manusia, baik secara langsung maupun tidak.<sup>10, 15</sup>

Dalam tubulus seminiferus terjadi proses steroidogenesis dan spermatogenesis. Testosteron dan estrogen pada sistem reproduksi berfungsi dalam proses pematangan sperma.<sup>16, 17</sup> Testosteron tersebut akan dirubah menjadi hormon estrogen oleh sel Sertoli yang akan berguna bagi pematangan sperma. Sel Sertoli juga mensekresi protein pengikat-androgen yang mengikat estrogen dan testosteron serta membawanya ke dalam tubulus seminiferus yang akan berguna bagi pematangan sperma.<sup>16</sup> FSH akan merangsang sel Sertoli, untuk merubah spermatid menjadi sperma (spermiogenesis). Dengan adanya EDC akan mengganggu mekanisme dari kerja hormon tersebut.<sup>16, 17</sup>

Karena hal tersebut peneliti ingin melakukan penelitian tentang pengaruh paparan pestisida pada awal kehidupan terhadap perkembangan dan fungsi sel Sertoli. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi dan menganalisis pengaruh pemberian pestisida terhadap gambaran histopatologi sel Sertoli.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimental* dengan desain yang dipakai adalah *post test only controll group design*. Besar sampel ditentukan berdasarkan *formula Freeder experimental sample size*, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 binatang coba. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus Sprague Dawley (SD) jantan 3 hari setelah kelahiran yang sehat dan tidak tampak abnormalitas anatomis dengan berat 6-8 gram.

Tikus SD tersebut dibagi ke dalam 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan yang ditentukan secara acak, dan seluruh kelompok mendapat susu dari induknya sampai hari ke-22. Kelompok kontrol (K) hanya diberi pakan standar *ad libitum*, sedangkan keempat kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4) dipaparkan obat nyamuk dengan jenis masing-masing sesuai kelompoknya. Pada P1 diberikan 25  $\mu\text{g}$   $\beta$  estradiol 3-benzoat yang diencerkan dalam minyak wijen dosis tunggal s.c dengan BD non-traumatik needle dalam selang 1 hari pemberian selama 20 hari. Pada P2 dipaparkan asap dari obat nyamuk bakar lingkaran (transflutrin 0.03%) 8 jam dalam 1 hari selama 20 hari. P3 dipaparkan 3 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.468 mg dan propoxur 12.15 mg) yang disemprotkan ke dalam kandang melalui nebulizer sebanyak 1 kali sehari selama 20 hari. P4 dipaparkan dengan 4 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.648 mg dan propoxur 16.20 mg) yang di semprotkan ke dalam kandang dengan nebulizer sebanyak 1 kali sehari selama 20 hari.

Pada hari ke 100 hari semua tikus diberikan anestesi dengan menggunakan ether dan diterminasi dengan cara dislokasi servikal. Kemudian testis tikus akan

diteliti setelahnya. Organ testis dari tikus diproses secara mikroteknik dan dilakukan pengecatan menggunakan HE. Masing-masing preparat dibaca dengan perbesaran 400x pada 5 lapangan pandang, masing-masing lapang pandang dicari 5 tubulus yang hampir sama ukuran, bentuk, dan luasnya. Data yang dikumpulkan berupa data primer hasil pengamatan gambaran histopatologis Sel Sertoli yang akan dilakukan uji realibilitas (*Intercorrelation Coefficient test*) dengan hasil yang dilihat oleh seorang ahli patologi anatomi, dr. Ika Pawitra Miranti, Sp.PA.

## HASIL PENELITIAN

### Analisis Data

Tabel Uji Realibilitas

	Jumlah Total Sel Leydig		Cronbach's Alpha
	Pengamat 1	Pengamat 2	
Preparat A	176	181	0,989*
Preparat B	196	186	
Preparat C	225	216	
Preparat D	255	254	

Keterangan :

Pengamat 1 adalah peneliti

Pengamat 2 adalah dr. Ika Pawitra Miranti M.Kes , Sp.PA

\*diterima bila  $> 0,80$

Tabel Normalitas Data

Perlakuan	Shapiro Wilk	Levene Statistic
	p	p
1	0,154	0,153
2	0,517	
3	0,276	
4	0,119	
5	0,873	



Dari tabel normalitas didapatkan  $p > 0,05$  dan disimpulkan data memiliki distribusi normal dan homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA*.

Tabel Uji *One Way ANOVA*

Kelompok Perlakuan	Mean	$\pm$ SD	P
P1	251,80	91,753	0,013*
P2	143,60	38,240	
P3	142,60	53,729	
P4	173,20	30,384	
P5	179,60	35,076	

Keterangan :

\* Signifikan  $p < 0,05$

Hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai  $p = 0,013$ , karena  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan *Post Hoc test* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing kelompok

Tabel Uji *Post-Hoc*

	P1	P2	P3	P4	P5
P1	-	0,002*	0,003*	0,054	0,031*
P2	0,002*	-	0,780	0,127	0,202
P3	0,003*	0,780	-	0,206	0,312
P4	0,054	0,127	0,206	-	0,790
P5	0,031*	0,202	0,312	0,790	-

Keterangan :

\* signifikan  $p < 0,05$

P1 = perlakuan 1

P2 = perlakuan 2

P3 = perlakuan 3


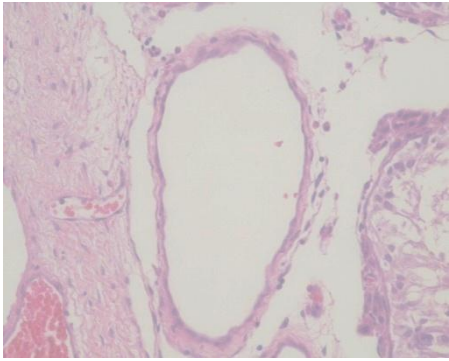
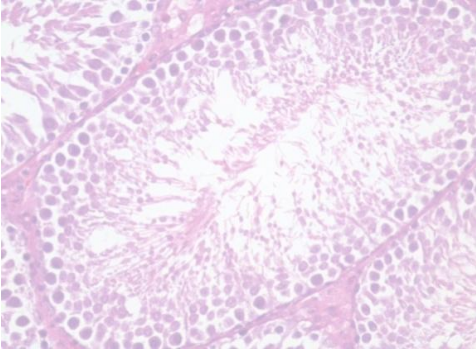
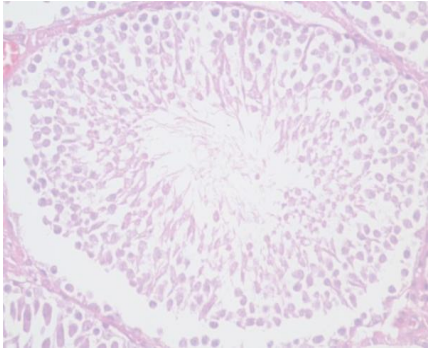
P4 = perlakuan 4

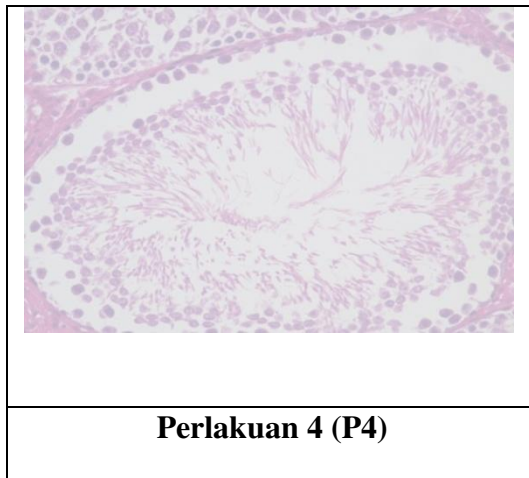
P5 = perlakuan 5

Tabel tersebut menunjukkan bahwa perbandingan antara kelompok 1 (kelompok kontrol) dengan kelompok lainnya bermakna secara statistik (kelompok perlakuan 2,3, dan 5 kecuali kelompok 4 ( $p = 0,054$ )) memiliki hasil  $p < 0,05$ . Hal

ini berarti terdapat perbedaan bermakna pada jumlah sel Sertoli antara kelompok kontrol dan kelompok-kelompok perlakuan 2,3, dan 5. Yaitu tepatnya terjadi penurunan jumlah sel Sertoli pada kelompok perlakuan (P2,P3,P5) dibanding dengan kelompok kontrol (P1).

### Hasil Pembacaan Preparat Tstis

	
<p><b>kontrol</b></p>	<p><b>Perlakuan 1 (P1)</b></p>
	
<p><b>Perlakuan 2 (P2)</b></p>	<p><b>Perlakuan 3 (P3)</b></p>



Pada gambar diatas dapat dilihat adanya penurunan jumlah sel Sertoli pada kelompok perlakuan (I,II,II, dan IV) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada gambar perlakuan I (diberikan injeksi estrogen poten, 25  $\mu\text{g}$   $\beta$  estradiol 3-benzoat) adalah kelompok tubulus seminiferus yang paling buruk hasilnya, dimana pada beberapa tubulus sama sekali tidak terdapat spermatozoa atau sel Sertoli didalamnya. Kemudian antara jenis obat nyamuk, bentuk bakar lingkak adalah hasil yang paling banyak mengalami penurunan jumlah sel Sertoli dibanding

## PEMBAHASAN

Beberapa tahun belakangan ini, telah dibuktikan bahwa konsentrasi ER (estrogen receptor) lebih tinggi pada saat masa fetal dibanding masa dewasa. Beberapa jaringan organ pada kelamin jantan terbukti dapat melakukan proses aromatisasi dan sintesis estrogen. Dimana estrogen tersebut berperan dalam kontrol *feedback negative* pada axis hipotalamus-hipofisis-testis. Apabila terjadi

gangguan pada sintesis estrogen maka akan mempengaruhi keseimbangan hipotalamus-hipofisis-testis.

Perkembangan dan diferensiasi dari sel sperma, Leydig, dan Sertoli adalah diatur oleh estrogen. Estrogen itu sendiri dihasilkan oleh sel Sertoli melalui proses aromatisasi testosteron dengan enzim aromatase yang disintesis oleh sertoli itu sendiri. Sel Sertoli adalah sel somatik yang berada di membran basalis dan meluas ke lumen tubulus seminiferus dan dapat dikatakan sebagai struktur penyokong dari epitel germinal. Sekitar 35-40% volume germinal epithelium terdiri dari Sel Sertoli. Testis utuh dengan proses spermatogenesis lengkap terdapat  $800-1200 \times 10^6$  sel Sertoli. Sel Sertoli mensekresi dan mensintesis beberapa macam faktor seperti: protein, cytokines, growth factor, opioid, steroid, prostaglandins, pengatur pembelahan sel, dan lain-lain. Pada sitoplasma sel Sertoli terdapat retikulum endoplasma halus dan kasar, golgi apparatus, granula lisosom. Semua organela tersebut mempunyai fungsi dalam proses pematangan spermatogenesis. Dilain sisi, sel germinal juga mengontrol fungsi dari sel Sertoli.<sup>16, 17</sup> Fungsi penting lainnya dari sel Sertoli adalah berperan dalam volume akhir testis dan produksi sperma pada masa dewasa. Jumlah sel Sertoli dan sel germinal berbeda-beda pada masing-masing spesies. Semakin banyak sel Sertoli maka akan semakin banyak pula produksi sperma, hal itu membuktikan bahwa sel Sertoli berfungsi secara normal.<sup>17</sup> Paparan dosis tinggi estrogen poten dapat menekan konsentrasi FSH secara konsisten. Penurunan konsentrasi FSH dapat mempengaruhi pematangan spermatozoa. Akhir-akhir ini diketahui bahwa paparan estrogen lingkungan dapat menurunkan sensitivitas terhadap hormon androgen aslinya.<sup>3</sup>

Pada penelitian ini didapatkan penurunan jumlah sel Sertoli hewan coba pada masing-masing kelompok yang bermakna secara statistik. Hal ini dikarenakan tikus terkena paparan obat nyamuk yang bekerja sebagai endocrine *disrupts chemicals*, dimana ikatan antara EDC dan reseptor endokrin mengganggu kerja hormon endokrin aslinya yang berakibat pada reproduksi yaitu terjadinya penurunan jumlah sel Sertoli pada tikus *Sprague Dawley* jantan.<sup>3, 18</sup>

Pada penelitian yang dilakukan oleh N. Atanassova dkk (1999) menyimpulkan bahwa pemberian diethylstilbestrol dan ethynil estradiol pada tikus selama masa neonatus memberikan efek yang buruk pada kesehatan reproduksi tikus tersebut. Terdapat penurunan volume testis yang diikuti penurunan jumlah sel germinal dan sel Sertoli yang signifikan.<sup>3</sup> Proses spermatogenesis juga terganggu akibat adanya penurunan fungsi dari sel Sertoli yang bekerja menyokong spermatogenesis dengan cara mensintesis androgen binding protein untuk mengikat testosteron masuk ke dalam tubulus seminiferus yang nantinya berguna untuk proses spermatogenesis.<sup>17, 19</sup> Kesimpulan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini karena subjek pada penelitian ini adalah tikus *Sprague Dawley* yang dipaparkan estrogen dan terjadi penurunan jumlah volume sel Sertoli.

Penurunan jumlah sel Sertoli akan mempengaruhi dari proses pematangan spermatozoa. Apabila spermatozoa tidak dapat mencapai pematangan tentu saja individu tersebut akan mengalami infertilitas atau spermatozoa tidak dapat membuahi ovum karena kurang mendapat sokongan dari sel Sertoli. Semua ini terjadi karena jumlah sel Sertoli yang menurun, sehingga menurun pula nutrisi dan hormon sekresi Sertoli yang diperlukan spermatogenesis.<sup>20</sup>

Keterbatasan penelitian ini adalah bersifat subjektif, karena apabila antara peneliti berbeda persepsi akan luas, bentuk, dan ukuran tubulus seminiferus yang dimaksud maka akan berbeda pula hasil yang didapatkan. Kemudian didapatkan bentuk sel Sertoli yang tidak selalu sama di setiap preparat. Selanjutnya adalah kendala mikroskop, dibutuhkan mikroskop yang memiliki akurasi tinggi agar mendapatkan hasil yang akurat.

## **KESIMPULAN**

1. Pemberian 25  $\mu\text{g}$   $\beta$  estradiol 3-benzoat (estrogen poten) selama 20 hari menyebabkan penurunan jumlah sel Sertoli yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol.
2. Pada perlakuan paparan estrogen potent ini juga terdapat kerusakan pada membran intetubulus seminiferus (membrane detachment). Diantara yang lainnya, perlakuan ini merupakan perlakuan yang memberikan hasil paling buruk, sampai-sampai terdapat tubulus yang sama sekali tidak ada sel spermatozoa atau sel Sertolinya.
3. Pada perlakuan obat nyamuk bakar lingkaran (transflutrin 0.03%) terdapat penurunan jumlah sel yang bermakna, sedangkan pada paparan 3 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.468 mg dan propoxur 12.15 mg) juga terdapat penurunan jumlah Sertoli namun tidak bermakna secara statistik, namun pada paparan 4 ml obat nyamuk cair (transflutrin 0.648 mg dan propoxur 16.20 mg) terdapat penurunan jumlah sel Sertoli yang bermakna.

Kelompok estrogen poten menunjukkan penurunan yang paling bermakna, diikuti dengan paparan obat nyamuk bakar lingkaran, 4 ml obat nyamuk cair, dan 3 ml obat nyamuk cair yang paling ringan mengalami penurunan jumlah sel Sertoli dibanding dengan kelompok kontrol

### **Saran**

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan empat yaitu kelompok yang dipaparkan obat nyamuk cair 3 ml yang disemprotkan. Mungkin diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan paparan yg lebih lama dan lebih sering waktunya, dan dosis yang lebih tinggi dari sebelumnya agar memberikan efek estrogen yang lebih. Kemudian pada kelompok perlakuan 3 yang diberikan injeksi 25 µg β estradiol 3-benzoat didapatkan adanya *membran detachment* yang belum diketahui apakah sebabnya. Diharapkan juga ada penelitian lanjutan yang akan meneliti tentang pengaruh EDC tersebut terhadap jaringan intersisial tubulus seminiferus sehingga dapat diketahui apakah ada pengaruhnya terhadap kejadian tersebut. Kemudian agar penelitian ini dijadikan sebagai peringatan akan penggunaan insektisida yang benar agar tidak melewati batas toksik yang telah ditentukan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Jensen TK, Toppari J, Keiding N and Skakkebaek NE. Do environmental estrogens contribute to the decline in male reproductive health? *Clinical chemistry*. 1995; 41: 1896-901.
2. Fernandez MF, Olmos B, Granada A, et al. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals and prenatal risk factors for cryptorchidism and hypospadias: a nested case-control study. *Environmental health perspectives*. 2007; 115 Suppl 1: 8-14.
3. Atanassova N, McKinnell C, Walker M, et al. Permanent effects of neonatal estrogen exposure in rats on reproductive hormone levels, Sertoli cell number, and the efficiency of spermatogenesis in adulthood. *Endocrinology*. 1999; 140: 5364-73.
4. De Flora S, Micale RT, La Maestra S, et al. Upregulation of clusterin in prostate and DNA damage in spermatozoa from bisphenol A-treated rats and formation of DNA adducts in cultured human prostatic cells. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2011; 122: 45-51.
5. Soto AM, Justicia H, Wray JW and Sonnenschein C. p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environmental health perspectives*. 1991; 92: 167-73.
6. Varayoud J, Ramos JG, Bosquiaz VL, Lower M, Munoz-de-Toro M and Luque EH. Neonatal exposure to bisphenol A alters rat uterine implantation-associated gene expression and reduces the number of implantation sites. *Endocrinology*. 2011; 152: 1101-11.
7. Li YJ, Song TB, Cai YY, et al. Bisphenol A exposure induces apoptosis and upregulation of Fas/FasL and caspase-3 expression in the testes of mice. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2009; 108: 427-36.
8. Hulak M, Gazo I, Shaliutina A and Linhartova P. In vitro effects of bisphenol A on the quality parameters, oxidative stress, DNA integrity and adenosine triphosphate content in sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa. *Comparative biochemistry and physiology Toxicology & pharmacology : CBP*. 2013; 158: 64-71.
9. Lee PC. Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rats. *Endocrine*. 1998; 9: 105-11.
10. Fusani L, Della Seta D, Dessi-Fulgheri F and Farabollini F. Altered reproductive success in rat pairs after environmental-like exposure to xenoestrogen. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society*. 2007; 274: 1631-6.
11. Rider CV, Hartig PC, Cardon MC, et al. Differences in sensitivity but not selectivity of xenoestrogen binding to alligator versus human estrogen receptor alpha. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. 2010; 29: 2064-71.



12. Winarni TI. Alteration of Rat Reproductive Organ In Adulthood Caused by The Exposure of Foreign Estrogenic Compounds (Mosquito Insecticides) During Early Life. *Biomedical Science Diponegoro University*. Semarang: Diponegoro, 2004.
13. Dang VH, Nguyen TH, Lee GS, Choi KC and Jeung EB. In vitro exposure to xenoestrogens induces growth hormone transcription and release via estrogen receptor-dependent pathways in rat pituitary GH3 cells. *Steroids*. 2009; 74: 707-14.
14. Edmunds JS, McCarthy RA and Ramsdell JS. Permanent and functional male-to-female sex reversal in d-rR strain medaka (*Oryzias latipes*) following egg microinjection of o,p'-DDT. *Environmental health perspectives*. 2000; 108: 219-24.
15. Furuya M, Adachi K, Kuwahara S, Ogawa K and Tsukamoto Y. Inhibition of male chick phenotypes and spermatogenesis by Bisphenol-A. *Life sciences*. 2006; 78: 1767-76.
16. Ganong WF. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 17 ed. Jakarta: EGC, 1999.
17. Guyton H. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 9 ed. Jakarta: EGC, 1996.
18. Sharpe RM, Atanassova N, McKinnell C, et al. Abnormalities in functional development of the Sertoli cells in rats treated neonatally with diethylstilbestrol: a possible role for estrogens in Sertoli cell development. *Biology of reproduction*. 1998; 59: 1084-94.
19. Atanassova N, McKinnell C, Walker M, et al. Comparative effect of neonatal exposure of male rats to potent and weak (environmental) estrogens on spermatogenesis at puberty and the relationship to adult testis size and fertility: evidence for stimulatory effect of low estrogen levels. *Endocrinology*. 2000; 141: 3898-907.
20. Thyroid Hormone Stimulates the Proliferation of Sertoli Cells and Single Type A Spermatogonia in Adult Zebrafish (*Danio rerio*) Testis. *Endocrinology*. 2013; 154: 4365-76.